

基于混合加权法结合Box-Behnken响应面法 优选白及-三七药对提取工艺*

余丽琼¹,熊燕¹,赵坤¹,杨滔¹,杨玲¹,黄勇²,付志丽¹

(1.贵州护理职业技术学院,贵州 黔南布依族苗族自治州 551304;

2.贵州医科大学,贵州 贵阳 550003)

[摘要] 目的:采用多指标混合加权评分法结合Box-Behnken响应面法(BBD)优选白及-三七药对的提取工艺。方法:利用高效液相色谱(HPLC)法同步检测白及-三七药对中的三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、白及苷和人参皂苷Rb1含量,并结合干膏得率作为综合评价指标。在此基础上,运用熵权法-层次分析法(EWM-AHP)混合加权法,确定各指标的权重系数,并开展综合评分分析,通过单因素及BBD法分别考察提取溶剂、液料比、提取时间、提取次数对白及-三七药对提取工艺的影响,优选出最佳的提取工艺。结果:不同提取条件对白及-三七药对指标性成分含量具有一定影响,最佳优化工艺为提取溶剂40%乙醇,料液比为1:9,提取时间为80 min,提取2次。结论:EWM-AHP混合加权法可用于评价不同提取条件对白及-三七药对的影响,且所得最佳提取工艺具有较好的稳定性与重复性,可为该药对的现代提取研究及复方制剂开发提供参考。

[关键词] 白及;三七;提取工艺;熵权法-层次分析法;响应面法;多指标评价

[中图分类号] R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2025)08-0066-06

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.08.011

Optimization of Extraction Process for Baiji (*Bletilla striata*)-Sanqi (Pseudo-Ginseng) Based on Mixed Weighting Method Combined with Box-Behnken Response Surface Method

YU Liqiong¹, XIONG Yan¹, ZHAO Kun¹, YANG Tao¹,

YANG Ling¹, HUANG Yong², FU Zhili¹

(1.Guizhou Nursing Vocational college, Qiannan Buyi and Miao Autonomous Prefecture Guizhou 551304,
China; 2.Guizhou Medical University, Guiyang Guizhou 550003, China)

[Abstract] Objective: To optimize the extraction process of Baiji (*bletilla striata*)-Sanqi (pseudo-ginseng) by multi-index comprehensive weighted scoring method combined with Box-Behnken response surface method (BBD). Methods: High-performance liquid chromatography (HPLC) was used to simultaneously detect the contents of Notoginsenoside R1, ginsenoside Rg1, militarine, ginsenoside Rb1. Notoginsenoside R1, ginsenoside Rg1, militarine, ginsenoside Rb1 and ratio of dry extraction were comprehensive evaluation indicators. On this basis, the entropy weight method analytic hierarchy process (EWM-AHP) mixed weighting method was used to determine the weight coefficients of each indicator, and comprehensive scoring analysis was carried out. The single factor test and BBD were used to investigate the influence of extraction solvent, liquid material ratio, decocting time and decocting times of Baiji (*bletilla striata*)-Sanqi (pseudo-ginseng) to optimize extraction process parameters. Results: According to the objective weight of each index determined by the mixed weighting method, the comprehensive scoring was performed, and the optimal extraction process condition of Baiji (*bletilla striata*)-Sanqi (pseudo-ginseng) was determined as adding 9 times of the amount of 40% ethanol, extracting 2 times, each time for 80 minutes. Conclusion: The EWM-AHP mixed weighting method can be used to evaluate the effects of different extraction conditions on the Baiji (*bletilla striata*)-Sanqi (pseudo-ginseng). The optimized extraction

*基金项目:贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2023]一般126);贵州护理职业技术学院硕士基金课题(gzhlyj2022-05)

通信作者:付志丽,女,副教授,研究方向为药物制剂

process has been verified to be stable and reproducible, which can provide reference for modern extraction research and development of compound preparation.

[Keywords] Baiji (*Bletilla striata*); Sanqi (pseudo-ginseng); extraction process; entropy weight method analytic hierarchy process; response surface method; multi index determination

白及来源于兰科白及属植物白及 *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f.的块茎,质黏而涩,为收敛止血的要药,尤擅治肺胃的出血证,还有消肿生肌之功^[1];三七来源于五加科人参属植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen的干燥根,为止血化瘀之佳品,有止血不留瘀的特点^[2]。目前,相关数据挖掘研究发现白及组方治疗出血证的时候常配伍三七^[3]。两药相配,一散一收,既可收敛止血,又可化瘀止痛,共奏止血化瘀消肿之功,该药对在临床上治疗消化道溃疡出血,在抗凝血、抗血小板聚集、促进血管新生等方面均具有重要作用^[4]。

根据前期文献报道,关于白及或三七单味药的提取工艺研究较多,但关于其药对提取工艺的研究较少^[5-7]。本研究以白及-三七药对中三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、白及苷、人参皂苷Rb1成分含量及干膏率为指标,在单因素的基础上,采用熵权法-层次分析法(EWM-AHP)复合加权法计算各评分指标的权重系数,结合响应面设计优选白及-三七药对提取工艺,确保最大程度地保留白及-三七药对中多种有效物质,能发挥出药对的最佳治疗作用,以期为该药对的现代提取研究及复方制剂、中药颗粒开发提供参考。

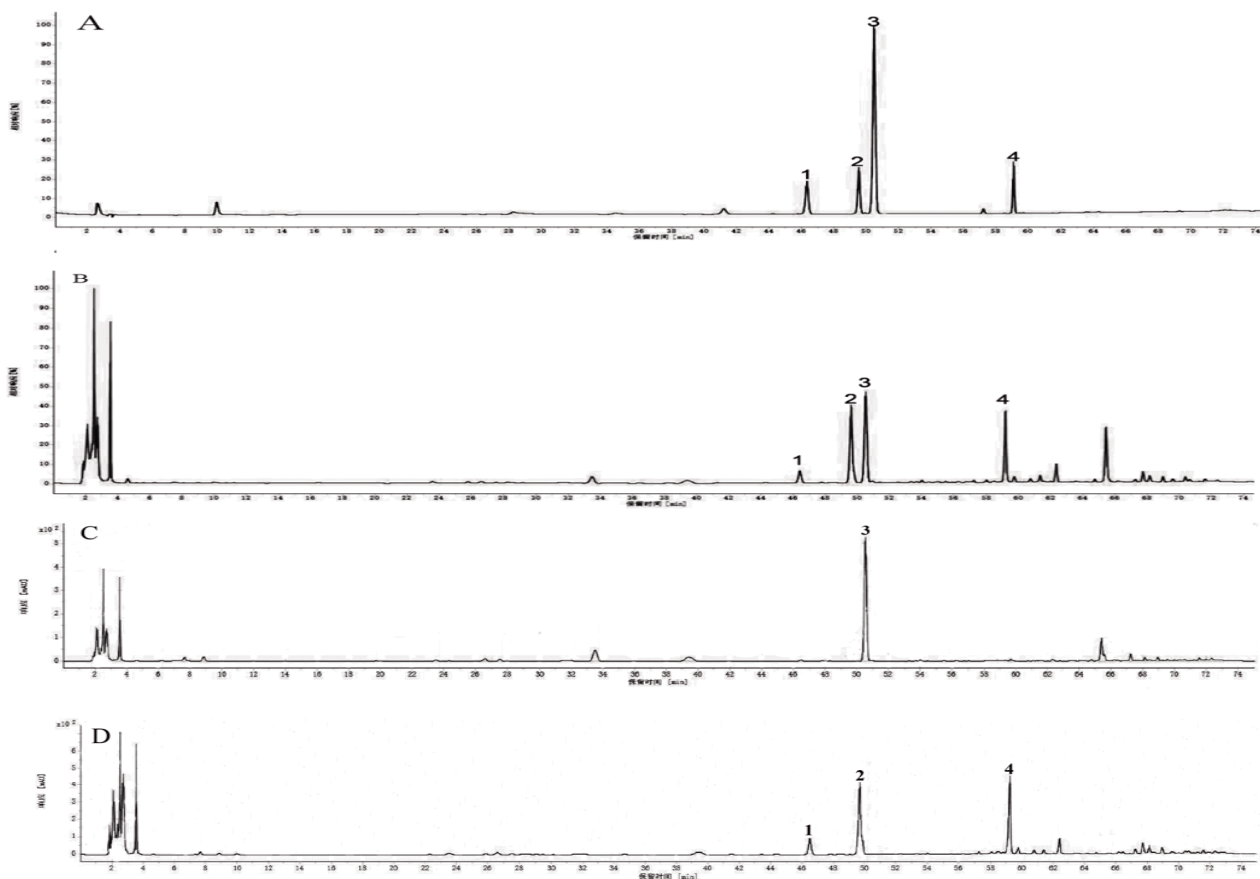
1 材 料

1.1 主要仪器 Agilent-Ⅲ型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);BK-480J型超声波清洗器(迈福科学仪器股份有限公司);EX225DZH十万分之一电子天平(奥豪斯仪器有限公司);FA2204万分之一分析天平(上海力辰邦仪器科技有限公司);202-1A电热恒温干燥箱(山东精诚医药装备制造有限公司)。

1.2 试药 白及(江西臻药堂股份有限公司,批号:20240328)、三七(安国药源商贸有限公司,批号:20240501)经贵阳市妇幼保健院主任药师李悦鉴定为正品。4种对照品由坛墨质检标准物质中心提供,纯度均大于98%。三七皂苷(批号:MUST-23062810;含量 $\geq 98.81\%$);人参皂苷Rg1(批号:MUST-23122010;含量 $\geq 99.75\%$);白及苷(批号:MUST-24010417;含量 $\geq 99.91\%$);人参皂苷Rb1(批号:MUST-24041611;含量 $\geq 99.41\%$);甲醇、乙腈均为色谱纯;水为超纯水;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 药液的制备 参考白及-三七散剂配伍比例及三七白及口服液配伍比例(1:1),精密称取白及-三七各10 g于圆底烧



注:1.三七皂苷R1;2.人参皂苷Rg1;3.白及苷;4.人参皂苷Rb1。

图1 混合对照品(A)、白及-三七药对样品(B)、缺三七阴性对照(C)、缺白及阴性对照(D)的HPLC图

瓶中,按1:11的料液比加入50%乙醇浸泡30 min,提取50 min,提取2次,合并提取液,将提取液减压浓缩(80 ℃)至250 mL得到浓缩液^[8-9]。

2.2 白及-三七药对提取工艺考察指标 基于2020年版《中华人民共和国药典》,选取白及主要成分1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯(白及苷)和三七主要成分人参皂苷Rg1、人参皂苷Rb1及三七皂苷R1共4种成分作为白及-三七药对提取工艺考察指标,采用不同浓度的乙醇为提取溶剂,利用高效液相色谱(HPLC)法测定4种成分的含量,并测定计算各提取条件的干膏得率^[9]。

2.3 指标成分定量测定

2.3.1 色谱条件 Ultimate® ODS-3(4.6 mm×250.0 mm,5 μm)色谱柱;流动相为乙腈(A)-0.1%磷酸水溶液(D),梯度洗脱(0~18 min,10.0%~17.0%A;18~23min,17.0%~19.5%A;23~36 min,19.5%~20.3%A;36~45 min,20.3%~25.0%A;45~55 min,25%~36%A;55~70 min,36%~59%A);流速:1.0 mL/min;柱温:30 ℃;进样量:10 μL;检测波长:203 nm。

2.3.2 标准品溶液的制备 精密称取三七皂苷R1标准品10.30 mg、人参皂苷Rg1标准品10.13 mg、白及苷标准品10.15 mg和人参皂苷Rb1标准品10.02 mg,放入10 mL容量瓶中,加入适量甲醇溶液,超声处理使其溶解,溶解完全后定容至刻度线,混匀。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密吸取“2.1”项下的提取液10 mL置于锥形瓶中,放入105 ℃的干燥箱中烘干3 h,残渣加入适量甲醇超声处理30 min,定容至25 mL容量瓶内,摇匀,过0.22 μm微孔滤膜,即得^[10]。

2.3.4 专属性考察 精密吸取对照品溶液与供试品溶液,按照“2.3.1”项下的色谱条件,取10 μL样品进样,进行色谱分析,并记录色谱图1。

2.3.5 线性关系考察 精密吸取“2.3.2”项下的对照品溶液,分别将三七皂苷R1配制成1.030 0 mg/mL、0.206 0 mg/mL、0.103 0 mg/mL、0.051 5 mg/mL、0.020 6 mg/mL,将人参皂苷Rg1配制成1.013 0 mg/mL、0.202 6 mg/mL、0.101 3 mg/mL、0.050 7 mg/mL、0.020 3 mg/mL,将白及苷配制成1.015 0 mg/mL、0.203 0 mg/mL、0.101 5 mg/mL、0.050 8 mg/mL、0.023 0 mg/mL,将人参皂苷Rb1配制成1.002 0 mg/mL、0.200 4 mg/mL、0.100 2 mg/mL、0.050 1 mg/mL、0.020 0 mg/mL。按“2.3.1”项下色谱条件,进样10 μL,以各成分的质量浓度为横坐标(mg/mL),峰面积为纵坐标绘制标准曲线,其回归方程见表1。

表 1 各指标成分线性方程(mg/mL)

对照品	回归方程	线性范围	r
三七皂苷R1	$y=2\ 270.6x+187.00$	1.030 0~0.020 6	0.999 2
人参皂苷Rg1	$y=4\ 825.2x+138.22$	1.013 0~0.020 3	0.999 3
白及苷	$y=17\ 543.0x+729.92$	1.015 0~0.020 3	0.999 1
人参皂苷Rb1	$y=4\ 184.1x+92.17$	1.002 0~0.020 0	0.999 3

2.3.6 精密度试验 取“2.3.4”项下制备的同一份混合对照品溶液(三七皂苷R1浓度为0.103 0 mg/mL、人参皂苷Rg1浓度为0.101 3 mg/mL、白及苷浓度为0.101 5 mg/mL、人参皂苷Rb1浓度为0.100 2 mg/mL),依据“2.3.1”所述色谱参数,连续注入

样品6次,测定各成分的峰面积并求出RSD值。测定结果表明,上述对照品的RSD值分别为1.17%、0.66%、1.13%、1.09%,说明仪器的精密表现优良。

2.3.7 稳定性试验 从“2.3.3”中取适量供试品,依据“2.3.1”色谱条件,在0、2、4、8、12、24 h分别取样测定,记录峰面积并计算RSD值。测定结果显示,三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、白及苷、人参皂苷Rb1的RSD值分别为1.79%、1.61%、1.68%、2.33%,均低于3%,说明供试品溶液在24 h内具有良好的稳定性。

2.3.8 重复性试验 取同一供试品6份按照“2.3.3”项下的条件制备供试品溶液,并按照“2.3.1”项下色谱条件依次进行检测,记录各成分的峰面积并计算RSD值。结果显示,三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、白及苷、人参皂苷Rb1的RSD值分别为2.11%、1.07%、2.52%、1.01%,RSD值均小于3%,表明该分析方法重复性良好。

2.3.9 加样回收率试验 精密吸取“2.1”项下已知各指标成分含量的白及-三七药对供试品6份,每份0.5 mL,置于具塞锥形瓶中,水浴蒸干,冷却至室温,精密量加入等量的三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、白及苷、人参皂苷Rb1对照品1.0 mL,按照“2.3.3”项下的方法放入105 ℃的干燥箱中烘干3 h,残渣加入适量甲醇超声处理30 min,定容至25 mL容量瓶内,摇匀,过0.22 μm微孔滤膜,并依据“2.3.1”项的色谱条件进行测定。计算结果见表2,三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、白及苷、人参皂苷Rb1的平均加样回收率分别为99.90%、99.37%、98.46%、99.43%,RSD值分别为1.07%、0.95%、0.67%、1.06%。

表 2 加样回收率试验 (n=6)

成分	已知量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
三七皂苷R1	0.052 5	0.051 5	0.104 4	100.78	99.90	1.07
	0.051 9	0.051 5	0.104 0	101.17		
	0.051 0	0.051 5	0.102 2	99.42		
	0.051 8	0.051 5	0.102 7	98.83		
	0.051 7	0.051 5	0.103 5	100.58		
	0.052 4	0.051 5	0.103 2	98.64		
人参皂苷Rg1	0.212 8	0.202 6	0.411 4	98.03	99.37	0.95
	0.260 0	0.202 6	0.461 1	99.27		
	0.228 1	0.202 6	0.430 8	100.05		
	0.243 4	0.202 6	0.443 5	98.76		
	0.237 6	0.202 6	0.439 0	99.41		
	0.246 7	0.202 6	0.450 8	100.74		
白及苷	0.073 4	0.050 8	0.123 0	97.64	98.46	0.67
	0.071 7	0.050 8	0.121 6	98.23		
	0.066 3	0.050 8	0.116 1	98.03		
	0.069 5	0.050 8	0.119 5	98.42		
	0.059 4	0.050 8	0.109 9	99.40		
	0.075 9	0.050 8	0.126 2	99.02		
人参皂苷Rb1	0.082 0	0.100 2	0.180 4	98.15	99.43	1.06
	0.091 3	0.100 2	0.191 2	99.70		
	0.086 7	0.100 2	0.185 8	98.90		
	0.097 9	0.100 2	0.198 3	100.20		
	0.082 5	0.100 2	0.181 3	98.60		
	0.092 1	0.100 2	0.193 3	101.00		

2.3.10 指标性成分含量的测定 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各10 μ L,注入高效液相色谱仪,记录峰面积,通过标准曲线回归方程计算指标成分的含量。

2.3.11 干膏得率的测定 取干燥至恒重的蒸发皿,按“2.1”项下方法操作,从浓缩并定容至250 mL的提取液中取10 mL转移至蒸发皿,水浴蒸干,在105 $^{\circ}$ C烘箱中干燥3 h后,置于干燥器中冷却30 min,取出,精密称重,计算干膏率^[11]。

2.4 多指标综合评分法建立

2.4.1 AHP法主观赋权 AHP法是一种确定指标权重的主观赋权法,依据白及-三七药对的配伍理念,对各指标成分及干膏率在药对配伍中的重要性进行评估,并对这些指标进行优先级排序。研究表明,5个评价指标可以划分为4个不同的层次(1为同等重要;2为稍重要;3为重要;5为明显重要)^[12]。确定各指标的先后顺序为干膏率>白及苷=人参皂苷Rg1>三七皂苷R1>人参皂苷Rb1。一致性比例因子(consistent ratio,CR)计算结果为CR=0.022,小于0.1,表明一次性检验通过。这说明指标优先比较判断矩阵具有满意的一致性,权重系数有效^[13]。根据上述优先判断矩阵的评分结果,三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、白及苷、人参皂苷Rb1及干膏率5个评价指标经过层次分析法得到的权重系数见表3。

表3 白及苷等5个指标成分两两比较的优先判断矩阵评分

指标	干膏率	白及苷	人参皂苷Rg1	三七皂苷R1	人参皂苷Rb1
干膏率	1	2	2	3	5
白及苷	1/2	1	1	2	5
人参皂苷Rg1	1/2	1	1	3	5
三七皂苷R1	1/3	1/2	1/3	1	3
人参皂苷Rb1	1/5	1/5	1/5	1/3	1

2.4.2 EWM客观赋权 熵权法是一种客观的权重确定方法,能够根据各指标观测值所包含的信息量来分配权重。指标的熵值越低,其离散程度越高,相应地,该指标在综合评价中的重要性(权重)也越大^[14]。在本研究中,针对单因素试验中的提取溶剂(A)、料液比(B)和提取时间(C)数据,采用离差标准化方法进行处理,并借助SPSSAU软件计算相关系数矩阵。具体计算方法如下^[15]:利用公式 $X_{ij}^* = \frac{X_{ij} - \min X_{ij}}{\max X_{ij} - \min X_{ij}}$ 对各个指标数

据进行标准化处理;利用公式 $P_{ij} = \frac{X_{ij}^*}{\sum_{i=1}^n X_{ij}^*}$ 、 $H_j = \frac{1}{\ln n} \sum_{i=1}^n P_{ij} \ln P_{ij}$

计算各指标熵值;利用公式 $W_j = \frac{1-H_j}{\sum_{i=1}^m (1-H_j)}$ 计算各指标权

重,得到三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、白及苷、人参皂苷Rb1及干膏率的权重系数见表4。

2.4.3 AHP-EWM综合加权法确定权重 将AHP、EWM法得到的权重系数按照公式 $W_{\text{综合}} = \frac{W_{\text{AHP}} \times W_{\text{EWM}}}{\sum_{i=1}^m (W_{\text{AHP}} \times W_{\text{EWM}})}$ 计算综合权重系数^[16]。三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、白及苷、人参皂苷Rb1及干膏率的权重系数见表4。

表4 不同评价方法各指标权重系数 (%)

评价方法	干膏率	三七皂苷R1	人参皂苷Rg1	白及苷	人参皂苷Rb1
AHP	36.92	11.53	24.31	22.16	5.08
EWM	17.93	26.88	11.39	21.74	22.07
综合	35.93	16.82	15.02	26.15	6.08

综合评分=[(三七皂苷R1含量/三七皂苷R1含量最大值)×三七皂苷R1含量综合权重系数+(人参皂苷Rg1含量/人参皂苷Rg1含量最大值)×人参皂苷Rg1综合权重系数+(白及苷含量/白及苷含量最大值)×白及苷综合权重系数+(人参皂苷Rb1含量/人参皂苷Rb1含量最大值)×人参皂苷Rb1综合权重系数+(干膏得率/干膏得率最大值)×干膏得率综合权重系数]×100。

2.5 单因素考察 对提取溶剂(A)、液料比(B)、提取时间(C)、提取次数(D)进行单因素考察,以5项指标成分为评价指标,对指标测得数据采用AHP-EWM法进行权重分配并综合评分,评分结果见图2。根据评分结果,料液比为1:11、提取时间70 min、乙醇浓度为50%时评分最高,所以以此为中心点进行响应面设计。在提取次数过程中,提取2次的综合评分已是最优,参考传统中药的提取次数并考虑到经济绿色发展,以提取次数2为固定值。基于以上结果,选择以提取溶剂为30%、50%、70%,加溶剂量为9、11、13倍,提取时间为50、70、90 min三因素三水平进行响应面试验。

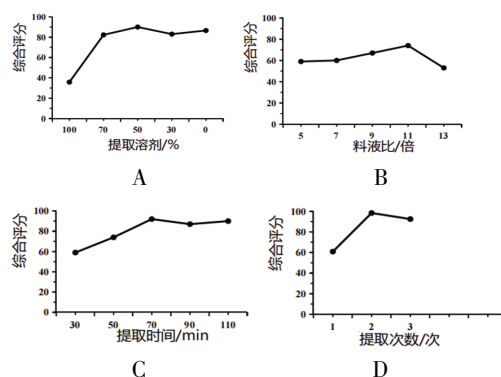


图2 白及-三七药对单因素考察结果 (n=3)

2.6 响应面试验设计与结果分析 在单因素实验的基础上,根据Box-Behnken的中心组合设计原理,以白及-三七的提取溶剂(A)、液料比(B)、提取时间(C)为考察因素,以5项指标成分为评价指标,设计3因素3水平试验条件进行优化试验。确定白及-三七的最佳提取工艺条件。各因素水平表见表5。实验设计及结果见表6。

表5 Box-Behnken 法因素与水平设计

水平	因素		
	提取溶剂(A)/%	料液比(B)/倍	提取时间(C)/min
-1	30	1:9	50
0	50	1:11	70
1	70	1:13	90

表6 响应面设计与结果

序号	A	B	C	干膏率/%	三七皂苷/mg	人参皂苷Rg1/mg	白及苷/mg	人参皂苷Rb1/mg	综合评分/分
1	70	11	50	9.97	2.870 0	14.843 7	4.708 8	6.028 1	55.01
2	50	11	70	16.02	3.978 5	18.876 8	6.012 8	8.382 8	77.79
3	50	13	90	13.96	3.625 2	16.982 4	6.947 7	7.079 2	73.22
4	70	9	70	12.33	3.882 8	17.815 4	5.951 0	9.859 1	70.84
5	30	11	50	13.56	2.758 7	15.138 9	4.543 2	6.503 5	61.44
6	50	13	50	14.49	2.619 9	11.244 8	3.795 4	5.615 3	57.35

续表6:

序号	A	B	C	干膏率 /%	三七皂苷 /mg	人参皂苷Rg1 /mg	白及苷 /mg	人参皂苷Rb1 /mg	综合评分 /分
7	50	11	70	18.57	4.265 6	16.755 2	6.037 8	8.465 8	82.07
8	30	9	70	19.30	4.156 7	18.574 7	7.875 4	7.247 6	88.56
9	50	11	70	17.77	3.774 0	18.954 5	6.014 0	8.084 9	80.25
10	50	11	70	16.04	4.176 4	18.462 2	6.389 0	8.780 0	79.49
11	70	11	90	11.59	5.092 8	22.020 5	4.391 0	7.268 9	69.73
12	30	13	70	17.89	3.776 7	18.764 4	4.810 8	6.508 2	75.82
13	50	9	90	16.84	5.305 9	19.700 8	5.904 4	8.884 7	83.97
14	70	13	70	10.59	5.198 2	19.175 1	9.374 6	8.148 3	80.8
15	30	11	90	19.32	5.534 8	17.091 2	6.593 4	6.592 0	87.72
16	50	9	50	8.53	3.601 7	15.322 2	5.595 9	6.684 8	57.86
17	50	11	70	16.22	4.013 7	18.385 3	6.352 1	8.718 6	79.12

3.3 回归模型的建立与方差分析 基于响应面试验结果,采用Design Expert 8.0.6软件进行多元拟合回归分析,得到综合评分(Y)与影响因素之间的回归模型方程如下: $Y=79.74-4.64\times A-1.75\times B+10.37\times C+5.67\times A\times B-2.89\times A\times C-2.56\times B\times C-0.18\times A^2-0.56\times B^2-11.09\times C^2$ 。

结果的方差分析见表7,由回归模型方差分析结果可知 $P<0.0001$, $R^2=0.9800$,失拟项不显著,说明该模型有意义,未知因素对实验结果干扰较小,该模型拟合度也较好,能较好地反映提取溶剂(A)、料液比(B)及提取时间(C)与综合评分之间的关系。模型1次项A、C呈显著影响($P<0.01$),3个因素对综合评分的影响由强到弱依次为:提取时间(C)>提取溶剂(A)>料液比(B)。各交互作用对综合评分的影响结果如图3,响应面坡面越陡峭表明响应面受试验因素交互水平就越强,响应面坡面越平缓则相反。结合单因素试验结果以及溶剂的动态提取效应方面,高浓度乙醇对三七皂苷类成分的初始提取效率较高,但随着时间延长,因溶剂挥发或热敏成分分解导致提取效率下降;而低浓度乙醇或水对多糖类成分的提取需更长时间达到溶解平衡。因此,高浓度溶剂需控制时间以避免过度提取破坏成分,低浓度溶剂则需延长以突破传质阻力。高浓度乙醇下短时提取可兼顾皂苷保留与多糖适度溶出,但需精准控制时间;若时间不足,多糖提取率显著降低,导致综合评分陡降。因此,提取溶剂和提取时间两者的交互作用更强。而当溶剂浓度足够高时,有效成分溶解度接近

饱和,增加料液比仅稀释溶液,对总提取量提升有限;反之,低浓度下即便增加溶剂体积,仍受限于溶解度阈值。两者交互在极端条件下可能显现,但常规区间内不显著。最终试验结果表明,在白及-三七提取过程中,提取时间与溶剂浓度,以及料液比的交互作用较强,对总的综合评分影响显著;而溶剂浓度与料液比之间交互作用弱,对总的综合评分影响较小。

表 7 回归模型的建立与方差分析					
来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
模型	1 772.37	9	196.93	38.19	<0.000 1
A-溶剂	172.61	1	172.61	33.47	0.000 7
B-料液比	24.64	1	24.64	4.78	0.065 1
C-提取时间	860.71	1	860.71	166.90	<0.000 1
AB	128.82	1	128.82	24.98	0.001 6
AC	33.41	1	33.41	6.48	0.038 4
BC	26.21	1	26.21	5.08	0.058 8
A ²	0.14	1	0.14	0.027	0.874 0
B ²	1.31	1	1.31	0.25	0.630 2
C ²	517.56	1	517.56	100.36	<0.000 1
残差	36.10	7	5.16		
失拟项	26.16	3	8.72	3.51	0.1283
净误差	9.94	4	2.48		
总误差	1 808.47	16			

2.7 结果分析及工艺验证 由Design-Expert 8.0.6软件进一步分析可得,最佳工艺条件为:提取溶剂38.972%乙醇,优化为40%乙醇;料液比1:9.371,优化为1:9;提取时间为82.494 min,优化为80 min。为检测上述结果,需要对最佳工艺进行验证。设计3组重复验证试验,称取白及-三七各10 g,按照优化出的最佳提取工艺进行提取,提取温度通过数显电热套精确控温,提取时间误差 ± 3 min,溶剂乙醇浓度误差 $\leq \pm 0.5\%$,料液比体积误差 ± 1 mL。将提取液按照“2.3.3”进行处理,测定各指标含量进行综合评分,试验结果见表8,平均综合得分为81.45分,各组评分之间的RSD值均小于3%。利用SPSS对3组试验结果进行ANOVA显著性检验($P>0.05$),组间无明显差异,证明该工艺合理可行,重复性与稳定性良好,具备工业化应用潜力,建议后续中试阶段重点关注溶剂回收效率与能耗平衡。

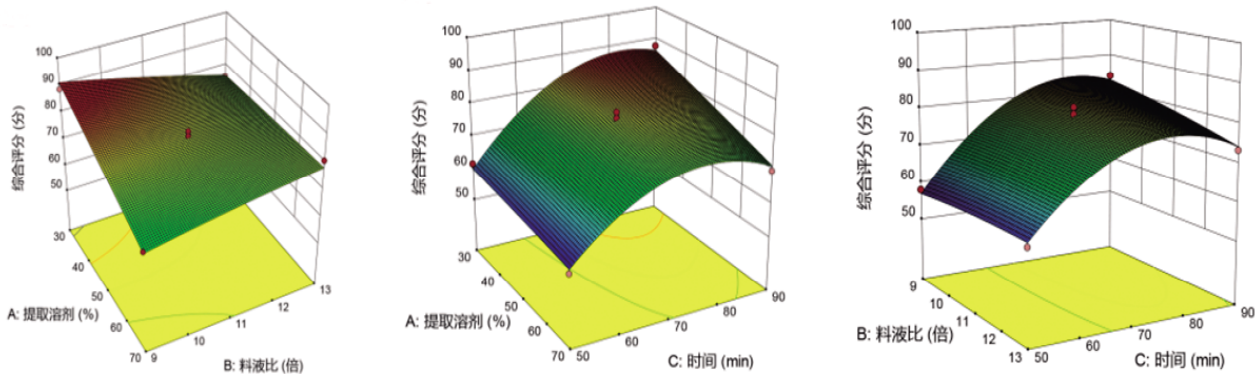


图 3 不同因素响应面交互作用结果图

表8 优化工艺验证 ($n=3$)

序号	干膏率/%	三七皂苷R1/mg	人参皂苷Rg1/mg	白及苷/mg	人参皂苷Rb1/mg	综合评分/分	RSD/%
1	18.70	3.630 7	15.919 9	7.494 8	6.137 1	82.15	1.10
2	19.02	3.832 4	19.508 5	5.379 9	6.849 8	80.44	
3	18.65	3.864 4	16.753 1	6.870 3	6.369 8	81.76	

3 讨 论

通过查阅白及-三七药对的主要有效成分及相关药理作用以及中西医对出血症的认识,该药对中的白及苷、三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、人参皂苷Rb1等成分具有降低PI3K、Akt蛋白的磷酸化水平,减少促炎因子表达释放,升高抗氧化酶活性,进而抑制炎症与氧化应激,减轻血瘀型大鼠胃黏膜损伤的药理作用^[7]。根据各成分的含量及止血效果,最终确定以药对干膏率、白及苷、三七皂苷R1、人参皂苷Rg1、人参皂苷Rb1作为提取工艺的考察指标。在本实验中,采用了单因素实验结合响应面法,并运用EWM-AHP赋权法对5个指标成分进行综合评分,从而优化出白及-三七的最佳提取工艺:提取溶剂为40%乙醇,提取时间为80 min,加水量为9倍,提取次数为2次。验证实验结果表明,该提取工艺科学合理,重复性良好,具备进一步开展中试放大及相关颗粒制剂大规模生产工艺研究的潜力。针对工艺中溶剂耗损等问题,将该工艺推向工业化生产时,需结合工程经济、设备匹配和实际生产约束,深入探讨其可行性及潜在挑战。例如引入渗透蒸发膜或分子筛吸附技术,提高低浓度乙醇回收效率,或者采用逆流动态提取技术,通过多级串联提取减少溶剂总量等。

EWM法基于数据离散度动态分配权重,可消除人为偏好干扰;AHP法整合药效成分优先级及专家经验,两者融合既保留数据客观性,又纳入中医理论导向,权重分配更符合中药多成分协同作用的特点,既能体现药对配伍的规律特点中各指标间的重要程度,也能消除人为主观影响^[18]。Box-Behnken响应面(BBD)设计以17组实验替代传统正交试验法(需 ≥ 27 组),减少37%的实验量,同时精准捕捉提取时间-溶剂浓度-料液比的非线性交互效应,且与常用的单因素试验、均匀设计、正交设计、星点设计比较,BBD法是一种采用多元线性和二次项模型拟合的实验优化设计方法,能在有限的实验数据条件下,建立较为准确的数学模型,可节省试验成本,缩短试验周期,是考察工艺条件的首选方法^[19-20]。本研究采用的EWM-AHP-BBD三联方法,不仅为白及-三七药对研究提供了稳定、高效的提取工艺,开创了一种数据驱动与中医理论深度耦合的中药复方优化范式。EWM-AHP权重体系还可灵活调整指标成分类型,如黄酮、生物碱、挥发油,适用于多活性成分共提取的复方制剂开发,尤其适合中医“君臣佐使”多靶点药效需求,其“多指标可量化、交互效应可解析、工艺稳定性可验证”的核心优势,可为中药现代化生产提供方法论创新和技术支撑。

初始溶剂用50%乙醇的依据来源于《中华人民共和国药典》2020年版中白及含量测定的方法,其中提取溶剂为稀乙醇,乙醇浓度49.5%-50.5%,同时参考了三七中相关成分的测定方法,故以50%为单因素试验提取溶剂的基准。本研究为初步探索性试验,核心目标聚焦于多指标混合加权法结合响应面

优选白及-三七药对提取工艺研究的可行性,因此在实验设计中选择同一批号饮片以最大限度减少原料批次差异对关键变量的干扰。尽管仅使用单一生产批号,但本研究在每次单因素及最后工艺验证过程皆进行了3次独立重复实验验证了该批次样品在关键指标稳定性上的可靠性。基于前期试验基础,已规划在下一步该药对相关制剂研究中收集至少3个不同批次饮片样本,补充关键成分批次间差异分析数据。

参考文献

- [1] 王坤堂,王逸伦,崔元璐,等.白及多糖药理作用及在中药现代制剂领域的研究进展[J].中成药,2023,45(7):2281-2287.
- [2] 毕晓伟,张璐璐,张艳.一测多评法同时测定三七伤药片中6种活性成分[J].中国药师,2018,21(8):1490-1493.
- [3] 杨连梅,邢俊标,杨国强.白及组方治疗血证用药规律[J].河南中医,2022,42(7):1076-1079.
- [4] 王红妹,刘建,李小飞,等.三七白及散调节PI3K/AKT信号通路对血瘀型胃溃疡大鼠胃黏膜损伤的影响[J].世界中西医结合杂志,2024,19(9):1766-1772.
- [5] 王单单,宁萌,吴作敏,等.多指标综合评分法结合正交实验优选黄芪-葛根药对提取工艺[J].中国药房,2023,34(1):57-61.
- [6] 张烨珊.“贵菱1号”白及多糖提取工艺优化及创面敷料研制[D].贵阳:贵州大学,2024.
- [7] 魏炳琦,陈柳,张新月,等.三七皂苷的提取、结构、生物活性及其应用研究进展[J].食品工业科技,2025,46(7):415-424.
- [8] 王红妹,吴元祥,刘建,等.三七白及散联合四联疗法对血瘀型十二指肠溃疡的疗效及影响Hp根除的因素分析[J].世界中西医结合杂志,2022,17(9):1872-1876.
- [9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国医药科技出版社,2020.
- [10] 唐茜,韩云凤,石懿,等.混合加权法结合响应面试验优化视力舒颗粒煎煮工艺[J].中国现代应用药学,2022,39(4):480-486.
- [11] 赵琪,石倩,省布么你呷,等.混合加权法结合响应面法优化藏药复方红景天滴丸的提取工艺[J].中药材,2024,47(5):1229-1235.
- [12] 张艳海.三七不同药用部位及其制剂化学成分差异表征[D].上海:上海中医药大学,2019.
- [13] 陈振东,施洋,张晓霞,等.层次分析法结合响应面法优化黄芩汤的提取工艺[J].中医导报,2023,29(1):45-49.
- [14] YU L Q, LI S L, TAN X Y, et al. Optimization of processing of Tiebangchui with highland barley wine based on the box-behnken design combined with the entropy method[J]. J Vis Exp,2023(195):(195).
- [15] 田晴晴,张欣婷,梁董茜,等.Box-Behnken响应面法优选麻贝清肺颗粒提取工艺及其药效学研究[J].中医导报,2024,30(9):17-24.

(下转第107页)

- tives from *Rhododendron anthopogonoides*[J]. J Nat Prod, 2010, 73(7): 1203–1206.
- [47] 严林, 胡凤祖, 吴静, 等. 烈香杜鹃精油和牛尾蒿精油对门源草原毛虫的生物活性[J]. 西北农业学报, 2009, 18(5): 58–63.
- [48] YANG K, ZHOU Y X, WANG C F, et al. Toxicity of *Rhododendron anthopogonoides* essential oil and its constituent compounds towards *Sitophilus zeamais* [J]. Molecules, 2011, 16(9): 7320–7330.
- [49] JING L L, MA H P, FAN P C, et al. Antioxidant potential, total phenolic and total flavonoid contents of *Rhododendron anthopogonoides* and its protective effect on hypoxia-induced injury in PC12 cells[J]. BMC Complement Altern Med, 2015, 15: 287.
- [50] 兰州医学院防治慢性气管炎研究组. 小叶枇杷治疗慢性气管炎研究[J]. 新医药学杂志, 1973, 14(11): 9–14.
- [51] DENG Y S, XI L H, HAN S Y, et al. Re-evaluation for systematic reviews of traditional Chinese medicine in the treatment of chronic bronchitis[J]. Medicine, 2023, 102(49): e36472.
- [52] 赵佩, 李兰兰, 杨效宇, 等. 复方小叶枇杷分散片的制备及质量评价[J]. 中药材, 2010, 33(6): 988–990.
- [53] 张之弘, 杨静, 刘世福. 复方小叶枇杷片治疗上呼吸道感染伴热性惊厥临床研究[J]. 新中医, 2020, 52(2): 61–63.
- [54] 兰州医学院训练部病理学教研组. 小叶枇杷素气雾治疗前后26例慢性气管炎痰液病理变化的观察[J]. 新医药学杂志, 1974, 15(3): 45–50.
- [55] 门源地区防治慢性气管炎协作组. 黄花杜鹃制剂治疗慢性气管炎233例疗效分析[J]. 青海卫生, 1975, 5(4): 21–25.
- [56] 中国人民解放军第四医院, 青海省生物研究所. 烈香杜鹃油、黄连素、氢溴酸樟柳碱治疗喘息型慢性气管炎分析[J]. 中草药通讯, 1975, 6(1): 51, 53, 64.
- [57] 公保才旦. 藏药十六味杜鹃丸结合放血疗法治疗慢性肺心病[J]. 中国民族医药杂志, 2013, 19(8): 2.
- [58] 格么措. 浅析藏药十六味杜鹃丸结合放血疗法治疗慢性肺心病的临床效果[J]. 中文科技期刊数据库(全文版)(医药卫生), 2023, (2): 101–104.
- [59] 王慧, 樊会英, 孙亚茹. 藏药十六味杜鹃丸联合五味沙棘散治疗慢性阻塞性肺疾病的疗效[J]. 中国民族医药杂志, 2022, 28(2): 26–27, 41.
- [60] MEDICB, BABIČŽ, BANIĆM, et al. Modern approach to dyspepsia[J]. Acta Clin Croat, 2021, 60(4): 731–738.
- [61] 龚文涵. 藏药十五味黑药丸联合逍遥散治疗功能性消化不良的临床疗效[J]. 中国民族医药杂志, 2021, 27(1): 2–4.
- [62] 次旦. 功能性消化不良采用藏药十五味黑药丸联合逍遥散治疗的效果价值研究[J]. 中国科技期刊数据库医药, 2021, (12): 31–33.
- [63] 次仁巴珠, 多吉. 藏药仁青芒觉丸、十五味黑药丸治疗功能性消化不良108例临床疗效观察[C]//全国民族医药专科专病学术研讨会论文选编. 北海, 2001: 23–25.
- [64] 邹毅, 刘之光, 杨芳炬, 等. 藏药十五味黑药丸对大鼠胃肠运动的影响[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 172–174.
- [65] 丹达多吉. 藏药仁青芒觉丸和十五味黑药丸治疗慢性腹泻的疗效观察[C]//全国民族医药专科专病学术研讨会论文选编. 北海, 2001: 19–21.
- [66] 刘之光, 范科华, 邹毅, 等. 十五味黑药丸对大鼠应激性胃溃疡的影响[J]. 四川生理科学杂志, 2007, 29(1): 24–25.
- [67] 多吉, 次仁巴珠. 藏药仁青芒觉丸、十五味黑药丸及智托洁白丸对147例消化系统疾病的临床观察[C]//全国民族医药专科专病学术研讨会论文选编. 北海, 2001: 21–23.
- [68] 吴长祥. 藏药十五味黑药散联合微波热疗治疗溃疡性结肠炎的效果[J]. 中国民族医药杂志, 2021, 27(11): 8–9.
- [69] 尼玛曲珍. 十六味杜鹃丸+放血疗法治疗高原红细胞增多症患者的疗效分析[J]. 健康之友, 2019, (19): 146–147.
- [70] 扎西措, 桑乾才让. 藏药十六味杜鹃丸配红景天预防急性高原病的探讨[J]. 中国民族医药杂志, 2018, 24(12): 3–4.
- [71] 柯长永, 胡艳萍. 藏药浴治疗类风湿性关节炎149例[J]. 中医外治杂志, 2009, 18(4): 20–21.

(收稿日期: 2025-02-26 编辑: 罗英姣)

(上接第71页)

- [16] 韩云凤, 唐茜, 石懿, 等. 基于熵权法-层次分析法结合响应面法优化养阴润目颗粒的提取工艺[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(7): 896–903.
- [17] 李秋雨. 基于止血功效的不同商品规格三七质量评价研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2021.
- [18] 刘畅, 邓鸿丹, 杨璐萍, 等. 基于多指标的CRITIC-AHP复合加权评分法优选厚朴-大黄药对水提工艺研究[J]. 中药材, 2023, 46(12): 3068–3075.
- [19] LI S L, YU L Q, LI C Y, et al. Optimization of processing technology for Tiebangchui with zanba based on CRITIC combined with box-behnken response surface method[J]. J Vis Exp, 2023(195): e65139.
- [20] 王和祥, 谭龙, 彭艺璇, 等. 层次分析-熵权法结合响应面法优化刺五加茎中7种成分提取工艺及不同产地药材品质比较研究[J]. 中药材, 2024, 47(8): 2031–2038.

(收稿日期: 2025-01-09 编辑: 刘国华)